

Les acides linoléiques conjugués :

3. Facteurs de variation des teneurs dans le lait et les produits laitiers

A. TROEGELER-MEYNADIER* et F. ENJALBERT

École Nationale Vétérinaire, Département Élevage et Produits, Laboratoire d'Alimentation, 23 chemin des Capelles, BP 87614, 31076 Toulouse Cedex, France

* Auteur chargée de la correspondance : a.meynadier@envt.fr

RÉSUMÉ

Les acides linoléiques conjugués (CLA), en particulier le *c9t11*-CLA et le *t10c12*-CLA, présentent des propriétés biologiques remarquables : effets « anti-cancer », « anti-athérosclérose » et prévention de l'obésité notamment. Essentiellement apportés par le lait et les produits laitiers, leur consommation reste néanmoins insuffisante pour obtenir des effets significatifs en médecine humaine. Plusieurs facteurs peuvent moduler les teneurs en CLA du lait et des produits laitiers, en régulant les enzymes des réactions de biohydrogénation de l'acide linoléique (C18:2). Un apport conséquent en acides gras polyinsaturés, principalement en C18:2 et en acide linoléique, des variations des pH ruminiaux vers un caractère très acide, une vidange rapide du rumen ainsi que d'autres facteurs locaux (cuivre, monensin) ralentissent les réactions de biohydrogénation. Les intermédiaires CLA et *trans*-monoéniques s'accumulent dans le rumen puis dans le lait aux dépens de la formation de l'acide stéarique. Bien que des facteurs de variations liés à l'animal ou au traitement industriel ultérieur des laits affectent de façon aléatoire les concentrations lactées de CLA, les pratiques alimentaires maîtrisées par les éleveurs (ajout de matières grasses, utilisation des fourrages) peuvent conduire à un enrichissement en CLA du lait et donc des produits laitiers. Ainsi, l'apport moyen journalier par habitant pourrait devenir suffisant pour obtenir des effets bénéfiques notamment anticancéreux, sur la santé.

Mots-clés : acides linoléiques conjugués - lait - produits laitiers - biohydrogénation - acides gras - fourrages.

SUMMARY

Conjugated Linoleic Acids : Variations of their concentrations in milk and dairy products. By A. TROEGELER-MEYNADIER and F. ENJALBERT.

The Conjugated Linoleic Acids (CLA), particularly the *c9t11*-CLA and the *t10c12*-CLA, exhibit some remarkable biological properties : anticancerous and antiatherosclerosis effects, prevention of obesity for example. Although the greatest contents are found into milk and dairy products, their concentrations are still insufficient for obtaining beneficial effects. Several factors can modulate the CLA contents in milk and dairy products by enzyme regulation of the linoleic acid (C18:2) biohydrogenation pathway. A marked dietary supplementation by polyunsaturated fatty acids (especially C18:2 and linolenic acid), very acid pH in rumen, rapid emptying of the rumen and other local factors (copper, monensin) lower biohydrogenation, leading to accumulation of intermediates, CLA and *trans*-monoenoic acids, in rumen then in milk, instead of complete saturation into stearic acid. Although other factors related to animal and to industrial treatment of milk, diversely affect CLA concentrations in milk, feeding practices easily checked by farmers (dietary fat supplementation, forage utilisation) induce milk, and so dairy products, enrichment of milk, and so dairy products, by CLA. In conclusion, in these conditions, the mean daily CLA supply by man would become sufficient for allowing beneficial effects, notably anticancerous, on health.

Keywords : Conjugated Linoleic Acids (CLA) - milk - dairy products - biohydrogenation - fatty acids - forage.

Introduction

Parmi les Acides Linoléiques Conjugués (CLA) qui sont des isomères géométriques et positionnels de l'acide linoléique (C18:2), deux, le *c9t11*-CLA et le *t10c12*-CLA, sont plus particulièrement abondants dans l'alimentation humaine et présentent des activités biologiques intéressantes.

Ces deux CLA sont réputés pour inhiber l'initiation et le développement de plusieurs types de cancers (tumeurs mammaires, leucémies, adénocarcinomes pulmonaires et prostatiques, cancers colo-rectaux, mélanosarcomes...) sur des modèles animaux et sur lignées cellulaires [22, 58, 59]. Quelques études épidémiologiques indiquent une action anticarcinogène possible chez l'homme, mais celle-ci reste encore très discutée, alors qu'elle est admise chez l'animal (NRC 1996). Cette propriété est la mieux connue et la seule réellement établie. Mais les CLA auraient d'autres potentialités. Ils contribueraient entre autre à lutter contre l'installation de l'obésité et de l'athérosclérose [22].

Ces 2 isomères sont retrouvés essentiellement dans les produits laitiers et à un moindre degré dans la viande de veau

et de bœuf [13]. Bien que leurs effets préventifs, notamment anticarcinogènes, soient obtenus à des concentrations alimentaires très faibles (dès 0,1% de teneur dans l'alimentation pour la prévention du cancer [32]), il faudrait néanmoins qu'une femme et un homme consomment respectivement 2 et 3 litres de lait par jour (lait classique avec un taux butyreux de 4% et 0,55% de CLA dans la matière grasse [13]) [66]. Ces quantités sont relativement importantes et il apparaît pertinent de pouvoir augmenter les concentrations de CLA dans le lait et les produits dérivés. Par conséquent, l'objectif de cette synthèse est de recenser dans la littérature les différentes modalités (conditions ruminales, pratiques alimentaires, aspects zootechniques et industriels) capables d'enrichir les denrées animales en CLA.

Milieu ruminal

Après avoir rappelé le schéma général des réactions de biohydrogénation de du C18:2, l'influence des acides gras présents dans le rumen, celle du pH et d'autres facteurs sur la régulation de cette voie métabolique seront abordées.

BIOHYDROGÉNATION DE L'ACIDE LINOLÉIQUE

Chez les ruminants, les CLA sont synthétisés en partie durant la biohydrogénation intraruminale du C18:2, qui se décompose en trois étapes (figure 1) : isomérisation du C18:2 en CLA catalysée par une isomérase puis une 1^{ère} réduction des CLA en acides trans-octadécamonoénoïques (*t*-C18:1) et une 2^{ème} réduction des intermédiaires obtenus en acide stéarique (C18:0) faisant intervenir des réductases distinctes. Cette biohydrogénation nécessite du C18:2 libre, et donc ne peut avoir lieu qu'après hydrolyse des matières grasses. Mais l'origine principale des CLA sécrétés dans le lait est la désaturation mammaire de l'acide *trans*-vaccénique (*t*11-C18:1) (un des isomères *t*-C18:1 obtenu durant la biohydrogénation du C18:2) en isomère *c*9*t*11-CLA. C'est pourquoi cet isomère est prédominant dans le lait et les produits laitiers [13]. Ainsi tout facteur susceptible de moduler cette biohydrogénation, notamment les conditions intraruminales entraînera des variations de la teneur lactée en CLA que ceux-ci soient d'origine ruminale ou mammaire.

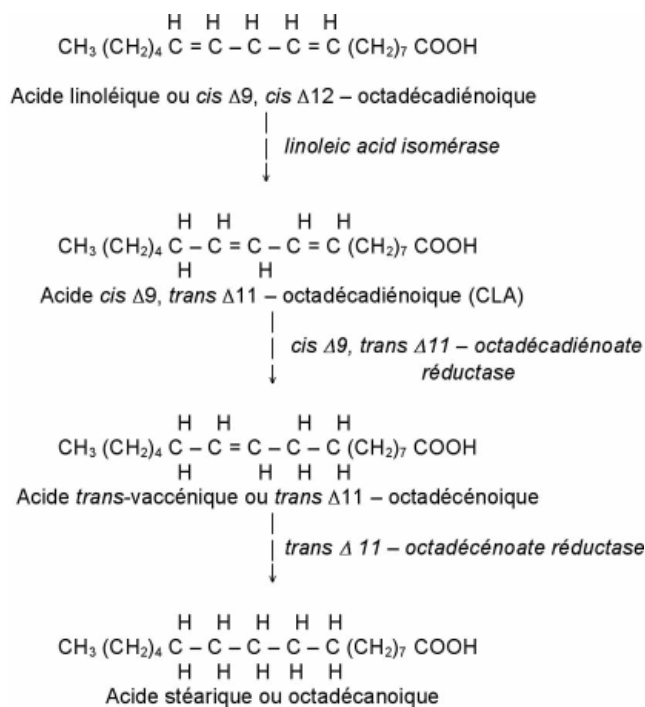


FIGURE 1. — Biohydrogénation ruminale de l'acide linoléique.

CONCENTRATIONS INTRARUMINALES EN ACIDES GRAS

Premièrement, l'obtention des CLA est conditionnée par la libération dans le rumen du C18:2 après hydrolyse des triglycérides et des galactolipides catalysée par des lipases bactériennes. Or, quand on augmente la quantité de matières grasses dans le milieu, la lipolyse est ralentie (Tableau II) [9, 73], mais, néanmoins, elle demeure moins sensible aux fortes concentrations en C18:2 que la biohydrogénation [9].

En modulant les activités enzymatiques mises en jeu, les concentrations ruminales en différents acides gras, principalement en C18:2 [31, 63], peuvent modifier directement la

vitesse de biohydrogénation. *In vitro*, un excès de C18:2 entraîne un ralentissement de la biohydrogénation, accompagné d'une accumulation des intermédiaires CLA et *t*-C18:1. Cette inhibition s'exerce que le C18:2 soit sous forme libre ou estérifiée (huile de soja). Mais à fortes concentrations, le C18:2 libre est plus efficace que les formes estérifiées [9]. Ces fortes concentrations altéreraient essentiellement les activités des réductases alors que l'isomérase ne serait pas ou peu inhibée [45]. HARFOOT *et al.* [31] ont en effet montré qu'une concentration en C18:2 dans le milieu de culture inférieure à 1mg/ml conduit, à l'issue d'une biohydrogénation rapide, majoritairement à la formation de C18:0, alors qu'une concentration supérieure à 1mg/ml entraîne l'accumulation de *t*11-C18:1 et à un moindre degré celle de CLA (figure 2), ce qui indique une diminution de l'intensité des deux réactions d'hydrogénation.

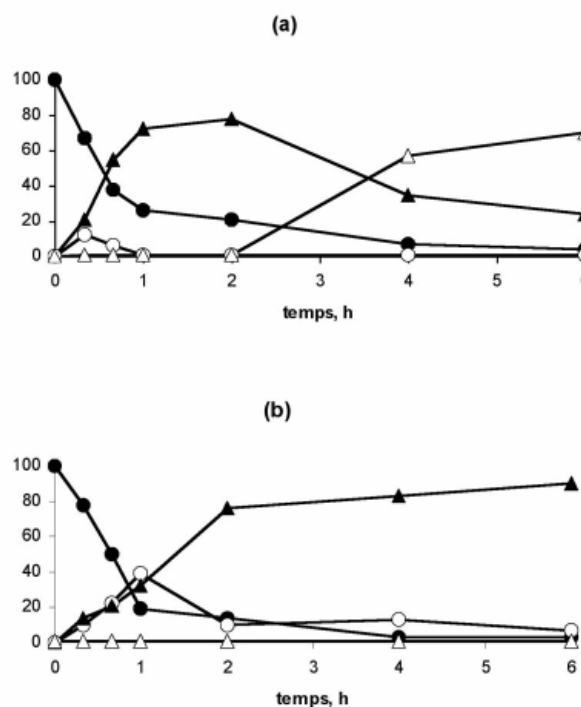


FIGURE 2. — Evolution des proportions du substrat (acide linoléique) (●), des intermédiaires métaboliques (acides linoléiques conjugués (▲) et acide *trans*-vaccénique (◐)) et du produit final (acide stéarique) (Δ), au cours de la biohydrogénation de l'acide linoléique en fonction de sa concentration initiale : 0,3 mg/ml (a) et 1,0 mg/ml (b), d'après HARFOOT *et al.* [31].

KIM *et al.* [41, 43] ont obtenu une évolution similaire des teneurs en CLA en fonction du temps et de la teneur initiale en C18:2 lors de cultures *in vitro* de *Butyrivibrio fibrisolvens*. La quantité de CLA s'élevait rapidement pour être maximale en 10 minutes, puis diminuait régulièrement si la concentration initiale en C18:2 était faible. En revanche, la disparition du CLA s'effectuait de plus en plus lentement lorsque les concentrations initiales en C18:2 étaient augmentées, jusqu'à devenir nulle pour une teneur initiale en C18:2 supérieure à 1 mg /ml. Ces expériences ont démontré qu'un excès de C18:2 inhibait les activités réductases des cultures de *Butyrivibrio fibrisolvens*, entraînant l'accumulation des intermédiaires CLA et *t*-C18:1. *In vivo*, une alimentation enrichie en matières grasses polyinsaturées, surtout en C18:2

Matière grasse (MG)	Quantité ajoutée (gMS/l)	CLA dans la MG du lait (%)	Teneur en MG du lait (%)	Teneur en CLA du lait (g/kg)	Références
sans matière grasse	0	0,40	3,41	0,14	[20]
huile d'arachide	1120	1,33	2,26	0,30	[38]
huile de tournesol	1120	2,44	2,18	0,53	[38]
huile de lin	217	0,71	3,72	0,26	[20]
huile de lin	464	1,59	3,35	0,53	[20]
huile de lin	880	1,69	2,47	0,42	[20]
huile de lin	1120	1,67	2,31	0,39	[38]
huile de soja	109	0,71	3,60	0,26	[20]
huile de soja	206	0,85	3,56	0,30	[20]
huile de soja	394	1,75	2,80	0,49	[20]
huile de soja	727	2,04	2,82	0,58	[20]
huile de soja	844	2,13	2,93	0,62	[20]
graines broyées de soja	3960	0,36	3,53	0,13	[20]
graines chauffées de soja	3834	0,77	3,34	0,26	[20]
graines de soja extrudées	3088	0,62	3,18	0,20	[18]
farine de poisson	753	0,77	2,58	0,20	[19]
huile de poisson	250	1,55	3,45	0,53	[55]
algues	910	2,62	2,95	0,77	[27]
monensin	0,25	0,61	3,00	0,18	[19]

TABLEAU I. — Influence d'une supplémentation de la ration en matières grasses (en fonction de leur nature et de leur forme de présentation) et en monensin sur les teneurs en acides linoléiques conjugués (CLA) et en matière grasse (MG) du lait chez la vache laitière.

[47] cause également une augmentation des *t*-C18:1 et CLA dans la phase liquide duodénale et dans le lait des vaches.

Par ailleurs, des expériences réalisées *in vivo* ont mis en évidence l'existence d'interactions entre les acides gras pour la synthèse de CLA, ces interactions s'exerçant au niveau de la biohydrogénation ruminale. Notamment, LOOR *et al.* [49] ont noté une synergie entre C18:2 et l'acide oléique (*c9*-C18:1), se traduisant par une augmentation des concentrations de *c9**t*11-CLA et de *t*11-C18:1 dans le duodénum, le plasma et le lait de vaches recevant une ration enrichie en huile de colza. Comme seule une faible proportion de *c9*-C18:1 subit des réactions d'isomérisation conduisant essentiellement à des dérivés *t*6-C18:1, *t*7-C18:1, *t*8-C18:1 et *t*9-C18:1, la quantité de *t*11-C18:1 issue de cet acide gras mono-insaturé reste négligeable [52]. Son effet n'est donc pas additionnel mais synergique, et résulterait d'une inhibition de la biohydrogénation du C18:2 qui deviendrait incomplète, provoquant une accumulation dans le rumen de *c9**t*11-CLA et de *t*11-C18:1. De même LOCK et GARNSWORTHY [47] ont constaté que l'apport simultané en même quantité de C18:2 et de C18:3 augmentait de manière plus prononcée les teneurs en *t*-C18:1 et CLA dans la phase liquide duodénale et dans le lait des vaches. En effet, C18:3 produirait au cours de sa biohydrogénation essentiellement du *t*15-C18:1, un peu de *t*13-C18:1 et *t*14-C18:1 [50] et absolument pas de CLA. Aussi la synergie entre C18:2 et C18:3 s'expliquerait-elle par une inhibition de la biohydrogénation de C18:2 par C18:3, avec accumulation de *t*11-C18:1 et *c9**t*11-CLA, et non par une production directe de *c9**t*11-CLA et de *t*11-C18:1 à partir du C18:3. Les deux acides gras insaturés, *c9*-

C18:1 et C18:3, réaliseraient une inhibition de la troisième étape (réduction de *t*11-C18:1 en C18:0) et probablement aussi de la deuxième étape (conversion des CLA en *t*-C18:1). Ces inhibitions pourraient être de type compétitif [30] puisque ces acides gras utilisent plus ou moins les mêmes voies de biohydrogénation [40, 71].

D'autre part, plusieurs études ont reporté qu'une supplémentation de la ration par des farines [1, 2, 19] ou des huiles [2, 3, 14, 55] de poissons ou des algues [27, 56] (Tableau I), augmentait les concentrations de CLA dans la matière grasse du lait, ainsi que dans le contenu ruminal et le plasma [5], et entraînait parallèlement une chute du taux butyreux. L'augmentation des quantités de CLA (*c9**t*11-CLA surtout) mais également de *t*-C18:1 (*t*11-C18:1 surtout) dans le lait de vaches recevant de l'huile de poisson ne serait pas liée à un apport accru de substrats (acides gras polyinsaturés de l'huile de poisson) mais serait due à un ralentissement de la biohydrogénation du C18:2 apporté par les autres aliments de la ration [3, 15, 21, 78]. Cette hypothèse a été confortée par les études de DONOVAN *et al.* [21] et d'ABU GHAZALEH *et al.* [1, 2, 3] : les concentrations lactées de CLA et de *t*11-C18:1 sont optimales lorsque 2 % d'huile de poisson (en matière sèche) sont ajoutées dans la ration, tandis qu'elles diminuent lors d'une supplémentation plus importante. Par conséquent, les huiles de poisson [3, 21] ou les farines [1] pourraient inhiber la biohydrogénation de C18:2, plus particulièrement les étapes de réductions, ce qui conduit à une accumulation des intermédiaires en amont et à une diminution de la teneur en C18:0. Ces effets inhibiteurs pourraient s'exercer directement sur les enzymes ou sur les bactéries

impliquées [7]. Cependant, lorsque l'ajout d'huiles ou de farines de poisson est plus important, la concentration du C18:2 dans le lait augmente tandis que les quantités de CLA et de *t*11-C18:1 diminuent. Dans ce cas, l'activité de l'isomérase est aussi altérée, bloquant partiellement l'ensemble de la voie de biohydrogénation. C'est pourquoi certains auteurs ont tenté d'associer farines de poisson [2] ou huiles de poisson [3, 78] à du soja extrudé pour augmenter les teneurs en CLA du lait : le soja apportait le C18:2 et le poisson le facteur d'inhibition de la biohydrogénation, dont la nature reste encore indéterminée. Les intermédiaires CLA et *t*-C18:1 s'accumulent. Parmi eux, les isomères *t*10-C18:1 et *t*10*c*12-CLA seraient produits en quantités suffisantes [56, 78] pour entraîner une forte chute du taux butyreux, les isomères *t*10 étant des inhibiteurs de la production de matières grasses dans le lait. En France, les farines de poisson sont interdites chez les ruminants, alors que depuis l'arrêt du 20 mars 2003, les huiles de poisson font à nouveau partie des aliments d'origine animale autorisés dans l'alimentation des ruminants.

INFLUENCE DU PH RUMINAL

In vitro, dans des cultures de phase liquide de rumen, les pH bas inhibent la disparition de C18:2 (Tableau II) et de C18:3, et les intermédiaires, *t*-C18:1 et CLA ne sont que faiblement formés [54, 74]. La production de CLA ne s'avère possible qu'entre 5,5 et 8,5 unités pH [41]. Paradoxalement, PALMQUIST [57] a constaté qu'on obtenait *in vivo*, une plus grande quantité de CLA et *t*11-C18:1, lorsque les conditions étaient très acides dans le rumen, ce qui pourrait paraître contradictoire avec les pH optimaux d'activité des enzymes impliquées (pH proches de la neutralité) et les résultats observés *in vitro* constatant plutôt une inhibition de l'isomérase avec peu de production de CLA et *t*-C18:1. En fait, de nombreux auteurs ont noté *in vivo* une augmentation de CLA et *t*-C18:1 dans le lait [28] et le contenu duodénal [37, 62] des vaches recevant une ration riche en concentrés donc acidifiante au niveau ruminal, cet effet étant annulé lors d'un ajout de tampon bicarbonate [37]. Mais aucune hypothèse sur la régulation de la biohydrogénation du C18:2 ou sur celle des populations bactériennes n'a été avancée.

D'autre part, l'environnement ruminal influence le type d'isomères *t*-C18:1 ou CLA produits : les pH bas favorisent

40 mg de C18:2			80 mg de C18:2		
pH	C18:2 libéré		pH	C18:2 libéré	
	en mg	en %		en mg	en %
6,78	16,53	41,3	6,78	30,77	38,5
6,34	15,97	39,9	6,29	30,84	38,6
5,98	15,16	37,9	5,92	20,16	25,2
5,56	9,61	24,0	5,53	15,30	19,1
5,22	4,36	10,9	5,25	6,10	7,6

TABLEAU II. — Effets du pH et de la quantité initiale d'acide linoléique (C18:2) (40 ou 60mg) sur la lipolyse ruminale des triglycérides de soja *in vitro* d'après VAN NEVEL et DEMEYER [73].

l'action d'une isomérase bactérienne spécifique, responsable de la formation des *t*10*c*12-CLA, *c*8*t*10-CLA, et *t*10-C18:1 [61]. De même, KUCUK *et al.* [44] ont observé une augmentation de l'isomère *t*10*c*12-CLA et une diminution de l'isomère *c*9*t*11-CLA dans l'intestin de brebis recevant une ration riche en concentrés (acidification du pH ruminal).

Les pH modulent également la vitesse de libération des acides gras depuis la matière première. Les pH bas entraînent une diminution de la lipolyse (Tableau II) [73], cette diminution n'étant significative que pour des pH < 6,0. Elle serait due à une inhibition des lipases bactériennes. D'autre part, les glucides non structuraux (concentrés) freineraient la production de lipases produites par les bactéries ruminales [73]. La dissociation des savons d'acides gras, notamment celle des sels de calcium, est également conditionnée par le pH ruminal (Tableau III) [72]. À pH > 6,2, il existe une certaine protection des acides gras insaturés par les savons de calcium, car ils ne se dissocient pas, alors qu'à des pH < 6,2 les sels commencent à se dissocier. Lorsque le pH s'acidifie encore (pH = 5,63), la proportion de C18:2 disparue diminue car celui-ci est moins bien biohydrogéné du fait d'une inhibition de cette réaction à pH bas [72].

AUTRES FACTEURS DE RÉGULATION DE LA BIOHYDROGÉNATION

D'autres facteurs interviennent dans le contrôle de la biohydrogénation et consécutivement dans les possibilités d'accumulation des intermédiaires. Le cuivre, en participant à la régulation de toutes les activités enzymatiques nécessaires à cette voie métabolique, module de façon complexe la production de CLA. Lors d'un apport faible en cuivre, la teneur de CLA dans le lait s'accroît [69] : la biohydrogénation devient incomplète entraînant directement l'accumulation des intermédiaires CLA et *t*-C18:1, notamment *t*11-C18:1 ultérieurement converti dans les tissus en CLA [7]. Paradoxalement, une supplémentation en cuivre peut aussi conduire aux mêmes résultats : en effet, le cuivre non seulement augmente les activités catalytiques des désaturases (D9 désaturase) [23], mais inhibe également à fortes concentrations les activités des isomérases et de la 1^{ère} réductase ruminales [24, 25]. Cette influence éventuelle du cuivre sur la production de CLA dans le lait de vache est encore floue et probablement complexe.

Certaines substances chimiques peuvent aussi moduler la biohydrogénation. Par exemple, l'addition de monensin à la ration (Tableau I) augmente la teneur en CLA du lait de

huile de soja hydrolysée		savons de calcium	
pH	% disparition C18:2	pH	% disparition C18:2
6,90	74,3	6,89	40,9
6,23	74,0	6,24	72,3
5,81	68,8	5,88	76,9
5,51	52,2	5,63	67,1

TABLEAU III. — Effet du pH ruminal sur le pourcentage de disparition de l'acide linoléique (C18:2) selon sa forme initiale : huile de soja hydrolysée (35 mg) ou savons de calcium d'acides gras d'huile de soja (50 mg) *in vitro* d'après VAN NEVEL et DEMEYER [72].

vache [17], et l'ajout de monensin ou d'iodoacétate à des cultures de *Butyrivibrio fibrisolvens* augmente les teneurs en CLA dans le milieu [43]. Ces ionophores sont capables d'inhiber la croissance des bactéries gram + dont *B. fibrisolvens* [7]. Or, cette bactérie délivre l'isomérase et la 1^{ère} réductase nécessaires aux 2 premières étapes de la biohydrogénation. Mais ces composés interfèrent peu avec l'isomérisation, et inhibent principalement les deux étapes d'hydrogénation [43].

La vitesse de vidange du rumen participe également mais indirectement au contrôle de la biohydrogénation. Si le rumen se vidange rapidement, le temps de séjour des particules est plus faible et la biohydrogénation pourrait être incomplète. KUCUK *et al.* [44] ont obtenu une augmentation du flux intestinal de CLA et *t*-C18:1 chez des brebis recevant une ration enrichie en huile de soja avec un ratio fourrages / concentrés de 18,4 / 81,6. Ils ont attribué cette augmentation à une vidange ruminale plus rapide. En effet, la vidange du rumen s'effectue plus rapidement avec un régime riche en concentrés, contenant des particules plus petites et plus vite dégradées, qu'avec un régime riche en fourrages (foin). Comme la réaction de biohydrogénation nécessite un certain temps, elle n'a pas eu le temps de se terminer, provoquant une augmentation des intermédiaires dans le duodénum.

Les concentrations en acides gras et le pH dans le rumen sont les deux grands facteurs de variation de la production ruminale de CLA et de *t*11-C18:1. Aussi, l'alimentation va être l'un des moyens les plus efficaces et les plus faciles à mettre en œuvre pour moduler la production de CLA dans le lait.

Pratiques alimentaires

De nombreux composants du régime alimentaire du bétail peuvent augmenter la concentration en CLA du lait, notamment le type et le taux d'incorporation dans la ration des matières grasses insaturées (effet sur la concentration intraruminale en acides gras) et des fourrages (effet sur le pH ruminal) [22, 38, 76].

NATURE ET FORME D'APPORT DES MATIÈRES GRASSES DANS LA RATION

Outre le type et les possibilités d'interactions entre les acides gras présents dans le rumen, la nature et la forme de distribution de la matière grasse d'origine alimentaire interviennent également dans la régulation de l'intensité des réactions de biohydrogénation (Tableau I).

Lors d'une alimentation normale des vaches laitières, on ne retrouve que 0,4 à 0,8 % de CLA dans la matière grasse du lait. Cette teneur augmente si l'apport en matières grasses insaturées, en particulier riches en C18:2, est accru. Ainsi, lorsque l'alimentation est enrichie en huiles insaturées, la proportion de CLA dans la matière grasse du lait atteint 2 à 3 % [57] (Tableau I). Sous forme de savons calciques, par exemple, le soja, très riche en C18:2, induit une production lactée maximale de CLA, tandis que le lin (moins riche en

C18:2) conduit à une excrétion moyenne et le colza (pauvre en C18:2) à une production très faible de CLA [15]. Par conséquent, les concentrations lactées de CLA sont corrélées à l'apport alimentaire en C18:2, mais l'accessibilité de ces acides gras aux phénomènes de dégradation ruminale intervient également.

Les graines oléagineuses sont en effet moins « rentables » que les huiles correspondantes pour favoriser l'augmentation des concentrations de CLA dans le rumen et le lait (Tableau I). Alors que les esters d'acides gras contenus dans les huiles gagnent facilement et massivement les voies de biohydrogénation après hydrolyse, la digestion préalable par les micro-organismes de la paroi végétale est indispensable dans le cas des graines. Cette étape s'effectue lentement et entraîne une libération progressive dans le milieu ruminal des acides gras intracellulaires. Au fur et à mesure, ces derniers sont alors immédiatement et totalement utilisés dans la voie de biohydrogénation. Dans ce cas de figure, comme il n'y a pas d'augmentation au cours du temps de la quantité de C18:2 libre, cette voie métabolique n'est pas ralentie (*cf. supra*) ce qui entraîne une conversion totale des acides gras libérés en C18:0 et prévient l'accumulation des intermédiaires (CLA et *t*-C18:1) [11]. Toutefois, un traitement des graines par extrusion [14, 18, 60] ou chauffage [20], en fragilisant la paroi végétale, peut partiellement rétablir une accumulation locale des substrats et une inhibition de la biohydrogénation favorable à la production de CLA (Tableau I). Néanmoins, les graines traitées restent moins efficaces que les huiles. Bien que dégradées à la même vitesse que les graines brutes, les graines chauffées présentent une certaine « protection » à l'égard de la biohydrogénation engendrant un ralentissement de cette voie métabolique, qui est proportionnelle à la température de cuisson [65] et qui résulterait de l'accumulation de peroxydes d'acides gras insaturés [65]. Ainsi CHOUINARD *et al* [15] ont obtenu des teneurs en CLA plus élevées dans le lait lorsque les vaches recevaient des graines de soja chauffées par rapport à celles qui recevaient des graines de soja brutes. Comme précédemment, ce sont les graines oléagineuses les plus riches en C18:2 (soja) qui produisent le plus de CLA et de *t*-C18:1 [14, 68].

À un moindre degré, les tourteaux de graines oléagineuses, notamment de soja, peuvent aussi augmenter les teneurs en *c*9*t*11-CLA et en *t*11-C18:1 dans le lait de vache. Le tourteau résultant de l'extraction mécanique de l'huile serait plus efficace que celui extrait par solvant [51], probablement en raison d'une teneur supérieure en huile résiduelle. Quant aux graisses animales, elles ne permettent qu'une très légère augmentation des CLA dans le lait comparativement aux matières grasses d'origine végétale [15].

LE RATIO FOURRAGES / CONCENTRÉS

Le ratio fourrages / concentrés revêt une importance toute particulière, puisque plus on augmente la part des fourrages, plus on augmente la teneur en CLA et en *t*-C18:1 du lait [19, 33, 75]. Par opposition, si l'on diminue la teneur en fibres de la ration de 42,8 à 19,5 % (cellulose brute) et si l'on augmente le pourcentage d'amidon de 12,2 à 35,7 %, la lipolyse et la biohydrogénation chutent d'environ 50 % chacune, ce qui serait dû à une acidification du pH induite par l'enrichis-

Part des fourrages dans la ration		CLA (% MG)	Teneur en MG du lait (%)	Teneur en CLA du lait (g/kg)
Totale (%)	Composition (%)			
50%	33.4% herbe 16.6% foin (50% concentrés)	0.80	3.51	0.28
66.6%	66.6% foin (33.4 % concentrés)	0.81	4.00	0.32
83.3%	66.7% herbe 16.6% foin (16.7% concentrés)	1.29	3.64	0.47
100%	100% foin	0.71	4.01	0.28
100%	100% herbe	1.99	3.37	0.67

TABLEAU IV. — Effet du type de fourrage sur la teneur en acides linoléiques conjugués (CLA) du lait chez la vache laitière d'après DHIMAN *et al.* [19].

sement du milieu en amidon [29]. Ainsi les fourrages peuvent agir de trois manières : apport d'acides gras polyinsaturés (herbe fraîche), apport de fibres favorisant les pH proches de la neutralité (pH optimums des enzymes de la biohydrogénation) et stimulation de la microflore cellulolytique dont *Butyrivibrio fibrisolvens*. Par contre, un manque de concentrés peut induire une forte chute de la production laitière [75]. Ainsi, des teneurs élevées en CLA dans la matière grasse du lait ont été obtenues sur des vaches au pâturage (Tableau IV) [17, 19, 53, 57]. En outre, les concentrations en CLA et en isomères *t*-C18:1 (*t*10-C18:1 et *t*11-C18:1) dans le lait de vaches au pâturage augmenteraient avec l'altitude [16]. Sur les hauts pâturages, la prairie change de composition botanique et s'enrichit en Dicotylédones non Légumineuses, surtout Composées, Rosacées et Plantaginacées, plus riches en acides gras polyinsaturés. En revanche, les fourrages conservés sont bien moins efficaces : le foin n'entraîne qu'une faible augmentation de la teneur en CLA dans le lait [19, 75], quant à l'ensilage de maïs, il n'a aucun effet [12].

C'est pourquoi, les élevages privilégiant l'utilisation des fourrages verts (pâturage) riches en acides gras polyinsaturés et en fibres, toute l'année, obtiendront de meilleurs résultats sur la teneur en CLA du lait de leurs vaches, que les élevages pratiquant seulement la pâture estivale et surtout que les élevages intensifs [33, 77]. Les différences des teneurs en CLA dans le lait constatées entre pays [58, 59] résulteraient de ces pratiques alimentaires : par exemple, PRECHT et MOKENTIN [64] ont noté que le pays présentant la meilleur teneur en CLA dans le lait était l'Irlande où les vaches restent toute l'année au pré.

Cependant, le stade physiologique de l'herbe pâturée est à prendre en considération, car la teneur en CLA du lait diminue avec la maturation de l'herbage [14]. C'est pourquoi la teneur en CLA du lait est importante en fin de printemps (herbe jeune), et à un degré moindre à l'automne (repousse) [12]. En effet, les concentrations en CLA dans le lait d'été sont en général 3 à 4 fois supérieures que celles trouvées dans le lait de printemps [59]. Dans de nombreux pays, on note cette augmentation de *c9t11*-CLA et *t11*-C18:1 durant le début de l'été quand les vaches sont au pâturage [64]. En fait, il existe une nette variation de la teneur en CLA des laits

tout au long de l'année [33], avec un maximum en mai, juin, juillet (Figure 3). Ces données ont été recueillies sur des vaches recevant un fourrage conservé avec des concentrés à l'étable l'hiver, et sorties au pâturage au printemps. POLAN *et al.* [63] ont montré qu'il existait un ralentissement important (d'un facteur 4) de la biohydrogénation au printemps dans les échantillons de phase liquide de rumen, probablement lié à un changement de la population bactérienne et / ou de son activité métabolique. La consommation d'une herbe jeune au printemps, au sortir de l'étable, induit des changements de conditions ruminales et donc de populations bactériennes : les bactéries du groupe A, dont *Butyrivibrio fibrisolvens*, réalisant la majeure partie des deux premières étapes de la biohydrogénation, deviennent privilégiées. Elles représentent jusqu'à 25 % des bactéries ruminales lors d'un régime riche en fourrages, contre seulement 2,3 % lors d'un régime pauvre en fourrages [48]. Ainsi le maximum de CLA correspond à un moment où l'herbe est riche en acides gras polyinsaturés, et où la vache possède une microflore adaptée à son régime [35, 48]. En outre, l'activité de la $\Delta 9$ désaturase varie grandement en fonction des saisons, et devient maximale en mai, juin, juillet [48]. Cette herbe jeune riche en glucides pourrait également agir sur la $\Delta 9$ désaturase via l'insuline [48]. Ainsi l'effet de la saison est étroitement lié à l'effet de l'alimentation (pâturage et état de la pâture), aux conditions d'élevage (en stabulation ou au pré) et aux conditions clima-

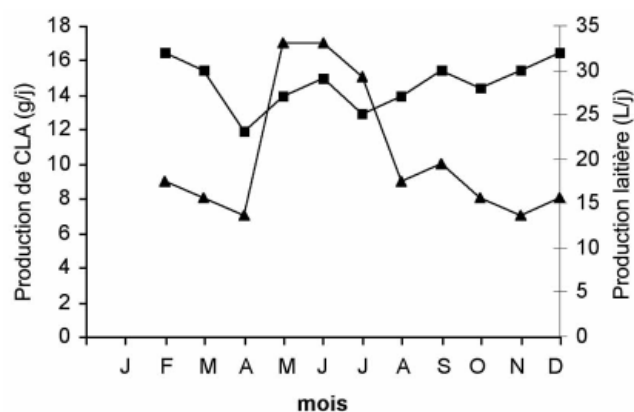


FIGURE 3. — Evolutions de la production laitière en l/l (■) et de la production des acides linoléiques conjugués en g/j (▲) dans le lait de vache en fonction des mois de l'année d'après LOCK et GARNSWORTHY [48].

tiques (précipitations, températures, périodes plus ou moins longues à l'étable).

Une ration enrichie en C18:2 ou riche en fourrages permet d'augmenter la teneur en CLA dans le lait. AGENÄS *et al.* [6] et SCHROEDER *et al.* [67] ont essayé d'apporter les deux conjointement en supplémentant en matière grasse (huile de soja) des vaches au pâturage. Ils ont noté des teneurs en CLA et α -C18:1 bien supérieures aux vaches au pâturage sans supplémentation démontrant par là l'intérêt d'associer les deux. Cependant, une forte chute du taux butyreux est alors observée.

EFFET DE LA DISTRIBUTION

Enfin, il semblerait qu'un régime restreint induirait une teneur plus élevée de CLA dans le lait qu'un régime *ad libitum* [22, 36], mais les résultats sont controversés. En effet, STANTON *et al.* [70] ont noté une diminution de teneur en CLA dans le lait de vaches en alimentation restreinte.

Aspects zootechniques et industriels

L'ANIMAL

Les concentrations en CLA dans le lait varient selon l'espèce animale (Tableau V), les ruminants ayant le lait le plus riche. Parmi les ruminants, le lait de brebis est en moyenne plus riche en CLA et en acides gras *trans* que le lait de vache, tandis que le lait de chèvre contient les teneurs les plus faibles [34].

Il existe également des variations importantes au sein de chaque espèce, en fonction de la race. Par exemple, bien que les concentrations en CLA par rapport à la matière grasse totale du lait soient identiques pour une vache Holstein et une Brune des Alpes, la quantité de CLA est supérieure dans le lait de la seconde qui présente un taux butyreux plus élevé [22]. On peut citer un autre exemple : la teneur en CLA du lait des vaches Holstein est supérieure à celle du lait des vaches Jersiaises [77]. Toutefois cet effet « race » semble relativement limité [39].

Un effet « individu » est également observé chez la vache [8, 26, 38, 39, 48, 60], certaines ayant de fortes concentrations lactées de CLA : on note des variations de 3 à 25 mg CLA / g MG de lait [22]. Des différences individuelles dans l'activité de la $\Delta 9$ désaturase, probablement d'ordre géné-

tique [39, 60] pourraient expliquer en partie cette hétérogénéité.

D'après WERNER *et al.* [76], la concentration en CLA du lait dépend également du nombre de lactations : les vaches ayant eu plus de 7 lactations, produisent significativement plus de CLA que celles ayant eu 1 à 3 lactations, voire 4 à 6. Néanmoins, l'effet de l'âge et du stade de lactation reste incertain : par exemple, KELSEY *et al.* [39] n'ont obtenu aucune différence dans les teneurs en CLA du lait, entre vaches multipares et primipares.

Comme il a été précédemment envisagé, l'alimentation influence grandement la concentration lactée de CLA chez les ruminants. Cependant, les individus ne répondent pas de façon identique aux différentes manipulations alimentaires. Par exemple, même si les Brunes des Alpes ont des teneurs en CLA et α -C18:1 plus élevées dans leur lait que les vaches Holsteins, elles répondent moins bien à l'ajout de matière grasse dans la ration [78].

LE TRAITEMENT INDUSTRIEL

Selon leur méthode de fabrication, les produits laitiers présentent de fortes différences dans leur teneur en CLA [79]. Dans le lait fermenté, la formation de CLA dépend de plusieurs facteurs [42] : la souche de bactéries lactiques, la concentration en ferments, la concentration en substrat, et la durée d'incubation du produit. Les fromages transformés ont ainsi une teneur en CLA supérieure. Par ailleurs, certains traitements réalisés sur le lait peuvent influencer la teneur en CLA : la stérilisation UHT et une conservation de plus de 3 semaines au réfrigérateur entraînent une diminution de la teneur en CLA [10].

Quant au beurre, sa teneur en CLA est plus élevée, d'une part parce qu'il concentre les matières grasses du lait, et d'autre part parce que le barattage augmente l'oxygénation des matières grasses (oxydation radicalaire) [46]. Il en est de même pour le ghee, appelé aussi « graisse de beurre » ou « beurre de beurre », qui concentre encore davantage les matières grasses, et qui subit de hautes températures de clarification (110° à 120° C) pour sa fabrication [58].

Conclusion

En conclusion, il est possible d'augmenter les teneurs en CLA au-delà de 0.5 g / l dans le lait et les produits laitiers en contrôlant l'intensité de la biohydrogénation ruminale par des pratiques alimentaires adaptées. D'après l'institut de l'élevage, la consommation française de produits laitiers par habitant en 2002 correspond à 71 kg de lait, 21 kg de yaourts et autres produits fermentés, 25 kg de fromages et 8 kg de beurre. En prenant en compte ces données et en considérant un lait avec une concentration de 0.5 g / l de CLA, il ressort du Tableau VI que l'apport journalier de CLA serait de 609 mg (par habitant). Cette quantité, à laquelle se rajoute une synthèse endogène tissulaire à partir du α -C18:1, serait suffisante pour obtenir des effets anticarcinogènes dans l'espèce humaine.

Espèce	CLA% / MG lait
Jument	0,1
Truie	0,2
Femme	0,4
Chèvre	0,6
Vache	0,7
Brebis	1,1

TABLEAU V. — Proportion des acides linoléiques conjugués (CLA) dans la matière grasse (MG) du lait de différentes espèces animales d'après JAHREIS *et al.* [35].

Produits laitiers	Consommation en kg / an / habitant	CLA consommé en g / an / habitant	CLA consommé en mg / j / habitant
Lait (4% MG)	70,8	35,4	97,0
Yaourt (4% MG)	21,2	10,6	29,0
Fromage (30% MG)	24,6	92,3	252,9
Beurre (83% MG)	8,1	84,0	230,1
TOTAL	124,7	222,3	609,0

TABLEAU VI. — Consommation estimée des acides linoléiques conjugués (CLA) par un français à partir des produits laitiers issus d'un lait à 0,46 g CLA / kg MB.

Références

1. — ABU-GHAZALEH A.A., SCHINGOETHE D.J., HIPPEN A.R. : Conjugated linoleic acid and other beneficial fatty acids in milk fat from cows fed soybean meal, fish meal, or both. *J. Dairy Sci.*, 2001, **84**, 1845-1850.
2. — ABU-GHAZALEH A.A., SCHINGOETHE D.J., HIPPEN A.R. : Feeding fish meal and extruded soybeans enhances the conjugated linoleic acid (CLA) content of milk. *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 624-631.
3. — ABU-GHAZALEH A.A., SCHINGOETHE D.J., HIPPEN A.R., KALSHEUR K.F., WHITLOCK L.A. : Fatty acid profiles of milk and rumen digesta from cows fed fish oil, extruded soybeans or their blend. *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 2266-2276.
4. — ABU-GHAZALEH A.A., SCHINGOETHE D.J., HIPPEN A.R., KALSHEUR K.F. : Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acid profiles. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**, 944-953.
5. — ABU-GHAZALEH A.A., SCHINGOETHE D.J., HIPPEN A.R., KALSHEUR K.F. : Conjugated linoleic acid and vaccenic acid in rumen, plasma, and milk of cows fed fish oil and fats differing in saturation of 18 carbon fatty acids. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**, 3648-3660.
6. — AGENÅS S., HOLTENIUS K., GRIINARI M., BURSTEDT E. : Effects of turnout to pasture and dietary fat supplementation on milk fat composition and conjugated linoleic acid in dairy cows. *Acta. Agric. Scand., Sect A, Animal Sci.*, 2002, **52**, 25-33.
7. — BAUMAN D.E., BAUMGARD L.H., CORL B.A., GRIINARI J.M. : Biosynthesis of conjugated linoleic acid. In : Proceedings of the American Society of Animal Science, Indianapolis, 1999, 1-15.
8. — BAUMAN D.E., BARBANO D.M., DWYER D.A., GRIINARI J.M. : Technical note : production of butter with enhanced conjugated linoleic acid for use in biomedical studies with animal models. *J. Dairy Sci.*, 2000, **83**, 2422-2425.
9. — BEAM T.M., JENKINS T.C., MOATE P.J., KOHN R.A., PALM-QUIST D.L. : Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. *J. Dairy Sci.*, 2000, **83**, 2564-2573.
10. — CAMPBELL W., DRAKE M.A., LARICK D.K. : The impact of fortification with conjugated linoleic acid (CLA) on the quality of fluid milk. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**, 43-51.
11. — CHILLIARD Y., FERLAY A., MANSBRIDGE R.M., DOREAU M. : Ruminant milk fat plasticity : nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.*, 2000, **49**, 181-205.
12. — CHILLIARD Y., FERLAY A., DOREAU M. : Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livest. Prod. Sci.*, 2001, **70**, 31-48.
13. — CHIN S.F., LIU W., STORKSON J.M., HA Y.L., PARIZA M.W. : Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Comp. Anal.*, 1992, **5**, 185-197.
14. — CHOUINARD P.Y., CORNEAU L., BAUMAN D.E., BUTLER W.R., CHILLARD Y., DRACKLEY J.K. : Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different sources of dietary fat. *J. Anim. Sci.*, 1998, **76**, 233.
15. — CHOUINARD P.Y., CORNEAU L., BUTLER W.R., CHILLARD Y., DRACKLEY J.K., BAUMAN D.E. : Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *J. Dairy Sci.*, 2001, **84**, 680-690.
16. — COLLOMB M., BÜTIKOFER U., SIEBER R., BOSSET J., JEAN-GROS B. : Conjugated linoleic acid and trans fatty acid composition of cows' milk fat produced in lowlands and highlands. *J. Dairy Res.*, 2001, **68**, 519-523.
17. — DHIMAN T.R., ANAND G.R., SATTER L.D., PARIZA M.W. : Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *J. Dairy Sci.*, 1996, **79**, 137.
18. — DHIMAN T.R., HELMINK E.D., McMAHON D.J., FIFE R.L., PARIZA M.W. : Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. *J. Dairy Sci.*, 1999, **82**, 412-419.
19. — DHIMAN T.R., ANAND G.R., SATTER L.D., PARIZA M.W. : Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *J. Dairy Sci.*, 1999, **82**, 2146-2156.
20. — DHIMAN T.R., SATTER L.D., PARIZA M.W., GALLI M.P., ALBRIGHT K., TOLOSA M.X. : Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.*, 2000, **83**, 1016-1027.
21. — DONOVAN D.C., SCHINGOETHE D.J., BAER R.J., RYALI J., HIPPEN A.R., FRANKLIN S.T. : Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2000, **83**, 2620-2628.
22. — DOYLE D. : Scientific forum explores CLA knowledge. *Inform.*, 1998, **9**, 69-73.
23. — ENGLE T.E., SPEARS J.W. : Dietary copper effects on lipid metabolism, performance, and ruminal fermentation in finishing steers. *J. Anim. Sci.*, 2000, **78**, 2452-2458.
24. — ENGLE T.E., SPEARS J.W., FELLNER V., ODLE J. : Effects on soybean oil and dietary copper on ruminal and tissue lipid metabolism in finishing steers. *J. Anim. Sci.*, 2000, **78**, 2713-2721.
25. — ENGLE T.E., FELLNER V., SPEARS J.W. : Copper status, serum cholesterol, and milk fatty acid profile in Holstein cows fed varying concentrations of copper. *J. Dairy Sci.*, 2001, **84**, 2308-2313.
26. — FOGERTY A.C., FORD G.L., SVORONOS D. : Octadeca-9,11-dienoic acid in foodstuffs and in the lipids of human blood and breast milk. *Nutr. Rep. Int.*, 1988, **38**, 937-944.
27. — FRANKLIN S.T., MARTIN K.R., BAER R.J., SCHINGOETHE D.J., HIPPEN A.R. : Dietary marine algae (*Schizochytrium sp.*) increases concentrations of conjugated linoleic, docosahexaenoic and trans-vaccenic acids in milk of dairy cows. *J. Nutr.*, 1999, **129**, 2048-2054.
28. — GAYNOR P.J., WALDO D.R., CAPUCO A.V., ERDMAN R.A., DOUGLASS L.W., TETER B.B. : Milk fat depression, the glucogenic theory, and trans-C18:1 fatty acids. *J. Dairy Sci.*, 1995, **78**, 2008-2015.
29. — GERSON T., JOHN A., SINCLAIR B.R. : The effect of dietary N on *in vitro* lipolysis and fatty acid hydrogenation in rumen digesta from sheep fed diets high in starch. *J. Agric. Sci.*, 1983, **101**, 97-101.
30. — GIVENS D.I., ALLISON R., BLAKE J.S. : Enhancement of oleic acid and vitamin E concentrations of bovine milk using dietary supplements of whole rapeseed and vitamin E. *Anim. Res.*, 2003, **52**, 531-542.
31. — HARFOOT C.G., NOBLE R.C., MOORE J.H. : Factors influencing the extent of biohydrogenation of linoleic acid by rumen micro-organisms *in vitro*. *J. Sci. Food Agric.*, 1973, **24**, 961-970.
32. — IP C., LISK D.J., SCIMECA J.A. : Potential of food modification in cancer prevention. *Cancer Res.*, 1994, **54**, 1957-1959.
33. — JAHREIS G., FRITSCHKE J., STEINHART H. : Conjugated linoleic acid in milk fat : high variation depending on production system. *Nutr. Res.*, 1997, **17**, 1479-1484.
34. — JAHREIS G., FRITSCHKE J., MOCKEL P., SCHONE F., MOLLER U., STEINHART H. : The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, *cis-9,trans-11 C18:2*, in milk of different species : cow, goat, ewe, sow, mare, woman. *Nutr. Res.*, 1999, **19**, 1541-1549.
35. — JAHREIS G., FRITSCHKE J., KRAFT J. : Species-dependant, seasonal, and dietary variation of conjugated linoleic acid in milk. In : Advances in conjugated linoleic acid research, Vol 1, Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W. et Nelson, G.J. eds., AOCS Press, Champaign, IL, USA, 1999, 215-225.
36. — JIANG J., BJOERCK L., FONDEN R., EMANUELSON M. : Occurrence of conjugated *cis-9,trans-11*-octadecadienoic acid in

- bovine milk : effects of feed and dietary regimen. *J. Dairy Sci.*, 1996, **79**, 438-445.
37. — KALSHEUR K.F., TETER B.B., PIPEROVA L.S., ERDMAN R.A. : Effect of dietary forage concentration and buffer addition on duodenal flow of trans-C18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1997, **80**, 2104-2114.
 38. — KELLY M.L., BERRY J.R., DWYER D.A., GRIINARI J.M., CHOUINARD P.Y., VAN AMBURGH M.E., BAUMAN D.E. : Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr.*, 1998, **128**, 881-885.
 39. — KELSEY J.A., CORL B.A., COLLIER R.J., BAUMAN D.E. : The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**, 2588-2597.
 40. — KEPLER C.R., TOVE S.B. : Biohydrogenation of unsaturated fatty acids : purification and properties of a linoleate $\Delta 12$ cis - $\Delta 11$ trans isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.*, 1967, **242**, 5686-5692.
 41. — KIM Y.J., LIU R.H., BOND D.R., RUSSELL J.B. : Effect of linoleic acid concentration on conjugated linoleic acid production by *Butyrivibrio fibrisolvens* A38. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, **66**, 5226-5230.
 42. — KIM Y.J., LIU R.H. : Increase of Conjugated Linoleic Acid Content in Milk by fermentation with Lactic Acid Bacteria. *J. Food Sci.*, 2002, **67**, 1731-1737.
 43. — KIM Y.J. : Partial inhibition of biohydrogenation of linoleic acid can increase the conjugated linoleic acid production of *Butyrivibrio fibrisolvens* A38. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 4258-4262.
 44. — KUCUK O., HESS B.W., LUDDEN P.A., RULE D.C. : Effect of forage:concentrate ratio on ruminal digestion and duodenal flow of fatty acids in ewes. *J. Anim. Sci.*, 2001, **79**, 2233-2240.
 45. — LAWSON R.E., MOSS A.R., GIVENS D.I. : The role of dairy products in supplying conjugated linoleic acid to man's diet: a review. *Nutr. Res. Rev.*, 2001, **14**, 153-172.
 46. — LIN H., BOYLSTON T.D., CHANG M.J., LUEDECKE L.O., SHULTZ T.D. : Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. *J. Dairy Sci.*, 1995, **78**, 2358-2365.
 47. — LOCK A.L., GARNSWORTHY P.C. : Independant effects of dietary linoleic and linolenic fatty acids on the conjugated linoleic acid content of cows' milk. *Anim. Sci.*, 2002, **74**, 163-176.
 48. — LOCK A.L., GARNSWORTHY P.C. : Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and (9-desaturase activity in dairy cows. *Livest. Prod. Sci.*, 2003, **79**, 47-59.
 49. — LOOR J.J., HERBEIN J.H., JENKINS T.C. : Nutrient digestion, biohydrogenation, and fatty acid profiles in blood plasma and milk fat from lactating Holstein cows fed canola oil or canolamide. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2002, **97**, 65-82.
 50. — LOOR J.J., BANDARA A.B., HERBEIN J.H. : Characterization of C18:1 and C18:2 isomers produced during microbial biohydrogenation of unsaturated fatty acids from canola and soya bean oil in the rumen of lactating cows. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 2002, **86**, 422-432.
 51. — LOOR J.J., HERBEIN J.H., POLAN C.E. : Trans18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat of grazing cows fed a grain supplement containing solvent-extracted or mechanically extracted soybean meal. *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 1197-1207.
 52. — LOOR J.J., HERBEIN J.H. : Dietary canola or soybean oil with two levels of conjugated linoleic acids (CLA) alter profiles of 18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat from dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2003, **103**, 63-83.
 53. — LOOR J.J., SORIANO F.D., LIN X., HERBEIN J.H., POLAN C.E. : Grazing allowance after the morning or afternoon milking for lactating cows fed a total mixed ration (TMR) enhances trans11-18:1 and cis9,trans11-18:2 (rumenic acid) in milk fat to different extents. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2003, **109**, 105-119.
 54. — MARTIN S.A., JENKINS T.C. : Factors affecting conjugated linoleic acid and trans-C18:1 fatty acid production by mixed ruminal bacteria. *J. Anim. Sci.*, 2002, **80**, 3347-3352.
 55. — OFFER N.W., MARSDEN M., DIXON J., SPEAKE B.K., THACKER F.E. : Effect of dietary fat supplements on levels of n-3 polyunsaturated fatty acids, trans acids and conjugated linoleic acid in bovine milk. *Anim. Sci.*, 1999, **69**, 613-625.
 56. — OFFER N.W., MARSDEN M., PHIPPS R.H. : Effect of oil supplementation of a diet containing a high concentration of starch on levels of trans fatty acids and conjugated linoleic acids in bovine milk. *Anim. Sci.*, 2001, **73**, 533-540.
 57. — PALMQUIST D.L. : Why is it important to know how feeding alters the fatty acid content of milk? In : EASTRIDGE M.L. (éd.) : Tri-state Dairy Nutrition Conference, Fort Wayne, 1998, 65-77.
 58. — PARODI P.W. : Conjugated linoleic acid : an anticarcinogenic fatty acid present in milk fat. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1994, **49**, 93-97.
 59. — PARODI P.W. : Cow's milk fat components as potential anticarcinogenic agents. *J. Nutr.*, 1997, **127**, 1055-1060.
 60. — PETERSON D.G., KELSEY J.A., BAUMAN D.E. : Analysis of variation in cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 2164-2172.
 61. — PIPEROVA L.S., TETER B.B., BRUCKENTAL I., SAMPUGNA J., MILLS S.E., YUCAWECZ M.P., FRITSCHKE J., KU K., ERDMAN R.A. : Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. *J. Nutr.*, 2000, **130**, 2568-2574.
 62. — PIPEROVA L.S., SAMPUGNA J., TETER B.B., KALSHEUR K.F., YUCAWECZ M.P., KU Y., MOREHOUSE K.M., ERDMAN R.A. : Duodenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of cis-9containing CLA in lactating dairy cows. *J. Nutr.*, 2002, **132**, 1235-1241.
 63. — POLAN C.E., McNEILL J.J., TOVE S.B. : Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by rumen bacteria. *J. Bacteriol.*, 1964, **88**, 1056-1064.
 64. — PRECHT D., MOKKENTIN J. : Frequency distributions of conjugated linoleic acid and trans fatty acid contents in european bovine milk fats. *Milchwissenschaft*, 2000, **55**, 687-691.
 65. — REDDY P.V., MORRILL J.L., NAGARAJA T.G. : Release of free fatty acids from raw or processed soybeans and subsequent effects on fiber digestibilities. *J. Dairy Sci.*, 1994, **77**, 3410-3416.
 66. — RITZENTHALER K.L., MCGUIRE M.K., FALEN R., SHULTZ T.D., DASGUPTA N., MCGUIRE M.A. : Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology. *J. Nutr.*, 2001, **131**, 1548-1554.
 67. — SCHROEDER G.F., DELAHOY J.E., VIDAURRETA I., BARGO F., GAGLIOSTRO G.A., MULLER L.D. : Milk fat acid composition of cows fed a total mixed ration or pasture plus concentrates replacing corn with fat. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**, 3237-3248.
 68. — SECCHIARI P., ANTONGIOVANNI M., MELE M., SERRA A., BUCCIONI A., FERRUZZI G., PAOLETTI F., PETACCHI F. : Effect of kind of dietary fat on the quality of milk fat from Italian Friesian cows. *Livest. Prod. Sci.*, 2003, **83**, 43-52.
 69. — SOL-MORALES M., PALMQUIST D.L., WEISS W.P. : Effects of fat source and copper on rumination of blood and milk triacylglycerol fatty acids in Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.*, 2000, **83**, 2105-2111.
 70. — STANTON C., LAWLESS F., KJELLMER G., HARRINGTON D., DEVERY R., CONNOLLY J.F., MURPHY J. : Dietary influences on bovine milk cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid content. *J. Food Sci.*, 1997, **62**, 1083-1086.
 71. — VAN DE VOSSENBERG J.L.C.M., JOBLIN K.N. : Biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids to stearic acid by a strain of *Butyrivibrio hungatei* from the bovine rumen. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2003, **37**, 424-428.
 72. — VAN NEVEL C.J., DEMEYER D.I. : Effect of pH on biohydrogenation of polyunsaturated fatty acids and their Ca-salts by rumen microorganisms *in vitro*. *Arch. Anim. Nutr.*, 1996, **49**, 151-157.
 73. — VAN NEVEL C.J., DEMEYER D.I. : Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents *in vitro*. *Reprod. Nutr. Dev.*, 1996, **36**, 53-63.
 74. — WANG J.H., SONG M.K., SON Y.S., CHANG M.B. : Effect of concentrate level on the formation of conjugated linoleic acid and trans-octadecenoic acid by ruminal bacteria when incubated with oilseeds *in vitro*. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 2002, **15**, 687-694.
 75. — WARD A.T., WITTENBERG K.M., FROEBE H.M., PRZYBYLSKI R., MALCOLMSON L. : Fresh forage and solin supplementation on conjugated linoleic acid levels in plasma and milk. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**, 1742-1750.
 76. — WERNER S.A., LUEDECKE L.O., SHULTZ T.D. : Determination of conjugated linoleic acid content and isomer distribution in three Cheddar-type cheeses : effects of cheese cultures, processing and aging. *J. Agric. Food Chem.*, 1992, **40**, 1817-1821.
 77. — WHITE S.L., BERTRAND J.A., WADE M.R., WASHBURN S.P., GREEN J.T., JENKINS T.C. : Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.*, 2001, **84**, 2295-2301.
 78. — WHITLOCK L.A., SCHINGOETHE D.J., HIPPE A.R., KALSHEUR K.F., BAER R.J., RAMASWAMY N., KASPERSON K.M. : Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 234-243.
 79. — ZU H.X., SCHUT H.A.J. : Inhibition of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline-DNA adduct formation in CDF₁ mice by heat-altered derivatives of linoleic acid. *Food. Chem. Toxicol.*, 1992, **30**, 9-16.